

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

AN 1986-031819 [05] WPIDS

DNC C1986-013298

TI Halo-hydroxybutyric acid ester prodn. - by treating gamma-halo-aceto-  
butyric acid ester with yeast strain.

DC B05 D16

PA (NISY) NIPPON SYNTHETIC CHEM IND CO

CYC 1

PI JP 60251890 A 19851212 (198605)\* 3p <--

ADT JP 60251890 A JP 1984-110097 19840530

PRAI JP 1984-110097 19840530

AN 1986-031819 [05] WPIDS

AB JP 60251890 A UPAB: 19930922

Process comprises treating gamma-haloacetobutyric acid ester with at least  
1 yeast strain selected from Trichosporon, Rhodotorula, Debaryomyces,  
Cryptococcus, Torulopsis and Candida.

Pref. starting ester is cpd. of formula  $X-CH_2COCH_2COOR$ , prepd. by  
reacting halogen with diketone inorganic solvent.

USE/ADVANTAGE - Gamma-halo-beta-hydroxybutyric acid is prepd. in  
yield at least 75%. Useful as intermediate for pharmaceuticals such as  
cartinine, BABOB, etc..

0/0

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭60-251890

⑬ Int. Cl. <sup>4</sup>	⑭ 識別記号	⑮ 庁内整理番号	⑯ 公開 昭和60年(1985)12月12日
C 12 P 7/62		8213-4B	
/(C 12 P 7/62		8213-4B	
C 12 R 1:645)		6760-4B	
(C 12 P 7/62		8213-4B	
C 12 R 1:885)		6760-4B	
(C 12 P 7/62		8213-4B	
C 12 R 1:72)		6760-4B	
		審査請求 未請求 発明の数 1 (全3頁)	

⑰ 発明の名称 γ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルの製造法

⑱ 特 願 昭59-110097

⑲ 出 願 昭59(1984)5月30日

⑳ 発 明 者 長 谷 川 昌 彦 京都市伏見区深草坊町35  
 ㉑ 発 明 者 郷 木 和 昭 西宮市東鳴尾町1-2-17  
 ㉒ 出 願 人 日本合成化学工業株式 大阪市北区野崎町9番6号  
 会社

日付

年月

曜日

## 1. 発明の名称

γ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルの製造法

## 2. 特許請求の範囲

γ-ハロアセト酢酸エステルにトリコスボロン属、ロドトルラ属、デバリオマイセス属、クリプトコッカス属、トルロブシス属、カンジダ属から選ばれる微生物の少なくとも一種を作用せしめることを特徴とするγ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルの製造法。

## 3. 発明の詳細な説明

〔産業上の利用分野〕

本発明はγ-ハロアセト酢酸エステルを微生物的に処理して、γ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルを製造する方法に関する。

〔従来の技術〕 〔発明が解決しようとする問題〕

γ-ハロアセト酢酸エステルを化学的に還元してγ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルを製造する場合、脱ハロゲンが起こりやすく目的物の収率が低い欠点がある。

これに対して、微生物的にγ-ハロアセト酢酸エステルを還元する方法は脱ハロゲン等の副反応の恐れはないものの、従来この反応に用いられるパン酵母やサーモアンエアロビウム・ブロッキー等の微生物では、目的物の収率がこれ又低く工業的規模の実施には実用的でない。

〔問題点を解決するための手段〕

しかるに本発明者等はかかる欠点のない方法について鋭意研究を重ねた結果、γ-ハロアセト酢酸エステルにトリコスボロン属、ロドトルラ属、デバリオマイセス属、クリプトコッカス属、トルロブシス属、カンジダ属から選ばれる微生物の少なくとも一種を作用せしめる場合、高収率でγ-ハロ-β-ヒドロキシ酪酸エステルが得られることを見出し、本発明を完成するに至った。

本発明で用いる出発原料のγ-ハロアセト酢酸エステルとは、有機溶媒中でハロゲンとジケテンを反応させて得られる一般式[X-CN, CO·CN, COOR]で示される化合物である。

Xはハロゲンであるがクロル、ブロムが実用的である。Rはアルキル基、フェニル基、アリール基等任意の有機残基であって良い。γ-クロルアセト酢酸メチルエス

ナル、 $\gamma$ -クロルアセト酢酸エチルエステルが有用である。

本発明で用いる微生物として有用なものを例示すれば次の通りである。

トリコスボロン・クタニウム(IFO 1198)、ロドトルラ・チキセンシス(IFO 0920)、ロドトルラ・ルブラ(IFO 1101)、デバリオマイセス・ハンセニ(IFO 0023)、デバリオマイセス・サブグロボサス(IFO 0794)、クリプトコッカス・ラウレンティ(IFO 0609)、クリプトコッカス・ネオフォーマンズ(IFO 0410)、トルロブシス・カンジダ(IFO 0405)、トルロブシス・アエリア(IFO 0881)、カンジダ・ユタリス(IFO 0396)、カンジダ・リボリチイカ(IFO 0717)。

本発明で用いる微生物は常法に従って培養することができる。 $\gamma$ -ハロアセト酢酸エステルとの反応は水系(水、生理食塩水、バッファー液、培地等)に微生物を分散させ、エネルギー源として糖類等を添加し、次いで該エステルを加えて10~70じ好ましくは20~50℃で0.1~100時間程度とあるいは攪拌すれば良い。又、微生物を別途固定化して作用せしめ

る等の任意の方法が採用される。反応形式としてはバッチ方式あるいは固定化された微生物を管や塔に充填し $\gamma$ -ハロアセト酢酸エステルを流下させる連続方式等任意の手段が採用出来る。

かかる反応時の媒体は水のみならず水と相溶性のある有機溶媒例えばアルコール、アセトン等の水/有機溶媒混合系が用いられる。微生物に対して害とならない有機溶媒を選択することは勿論必要である。

系に対し $\gamma$ -ハロアセト酢酸エステルはそのままあるいは有機溶媒に溶解あるいは分散させて添加される。該エステルの系中濃度は通常0.01~50重量%好ましくは0.05~10重量%が適当である。

反応時にグルコース等の糖類や微生物基質を共存させても差し支えない。かかる糖類や微生物基質の添加は反応の任意の段階で可能であり、一括、連続、分割のいずれの手段も実施出来る。又反応時間は0.1~100時間程度が実用的である。

反応終了後は微生物を遠心分離等の常法に従って分離し、濾液をエーテル、四塩化炭素、ベンゼン等の有機溶媒を用いて抽出する。

抽出液から溶媒を除去することによつて $\gamma$ -ハロー $\beta$ -ヒドロキシ酢酸エステルが得られる。

#### 【作用】

本発明においては $\gamma$ -ハロー $\beta$ -ヒドロキシ酢酸エステルが75%以上の高収率で得られるので、該方法は工業的に極めて意義が高い上、該エステルはカルニチン、GABOB等の医薬品の中間体として有用なものである。

次に実例を挙げて本発明の方法を更に詳しく説明する。

#### 実例1

酵母エキス3g、麦芽エキス3g、ペプトン5g、ブドウ糖10gからなる培地(pH6)5ccを試験管に取り、トリコスボロン・クタニウム(IFO 1198)を1白金耳接種して30℃で24時間と培養を行ない培養液を得た。

次に上記と同一組成の培地100ccを500cc容瓶口フラスコに取り、培養液5ccを添加して30℃で24時間と培養を行なった。

この系に $\gamma$ -クロルアセト酢酸エチルエステルの10w/v%エタノール溶液8ccを添加し( $\gamma$ -クロルアセト酢酸エチルエステル換算で0.8g)30℃で8時間、振とう培養を続け反応を行なった。(4時間目にグルコース5gを添加した。)

得られた反応液を遠心分離したのち、濾液にエーテル50ccを加えて抽出を行なった。抽出液を二層分離しエーテル層に無水硫酸マグネシウムを添加、脱水した後蒸留に付した。反応生成物はガスクロ、IR、NMRで確認したところ $\gamma$ -クロル $\beta$ -ヒドロキシ酢酸エチルエステルであることが判明した。

収率は90%又該エステルは $[\alpha]_D^{25} = -11.7$ (クロロホルム溶液、濃度5.7%)なる値を示した。

#### 実例2~12

次表に示す如き微生物を用いて実例1に準じて実験を行ない対応する $\gamma$ -ハロー $\beta$ -ヒドロキシ酢酸エステルを得た。その結果を表に示す。

実例	使用微生物	原料	還元物の収率
2	トリコスゲロン・クダニウム (IFO 1198)	γ-クロルアセト酢酸オクトル	82%
3	ロフトルラ・ラキセンレス (IFO 0920)	γ-ブロムアセト酢酸ノナル	83%
4	ロフトルラ・ルブラ (IFO 1101)	γ-クロルアセト酢酸ベンジル	85%
5	デバリオマイセス・ハンセニー (IFO 0023)	γ-ブロムアセト酢酸ブチル	83%
6	デバリオマイセス・サブプロボサス (IFO 0794)	γ-クロルアセト酢酸プロピル	75%
7	クリプトコッカス・ラクレンティー (IFO 0609)	γ-クロルアセト酢酸ノニル	85%
8	クリプトコッカス・ネオファーマンス (IFO 0410)	γ-クロルアセト酢酸アリル	75%
9	トルロブレス・カンジダ (IFO 0405)	γ-クロルアセト酢酸ビニル	78%
10	トルロブレス・アエリア (IFO 0881)	γ-クロルアセト酢酸フェニル	77%
11	カンジダ・ユティリス (IFO 0396)	γ-クロルアセト酢酸ノナル	79%
12	カンジダ・リボリタイカ (IFO 0717)	γ-クロルアセト酢酸デシル	75%